

# 胡萝卜花药发育的组织化学研究

吴晓琛, 于金金, 田惠桥

(厦门大学 生命科学学院, 福建 厦门 361005)

**摘要:** 胡萝卜四分体时期的花药在药室内壁和绒毡层细胞中积累淀粉粒, 随着花药的发育, 花粉先出现大液泡, 同时药室内壁和绒毡层细胞中淀粉粒消失; 以后花粉中的大液泡消失, 在花粉细胞质中出现淀粉粒。伴随着花粉的发育, 绒毡层细胞退化, 在细胞中积累较多的脂类物质, 同时花粉中脂类物质含量也明显增加。胡萝卜成熟花粉粒的储存物主要为脂滴, 也有少部分淀粉颗粒。胡萝卜花药在特定时间和特定部位积累营养储存物的过程也是其发育的一个特征。

**关键词:** 胡萝卜; 花药; 花粉; 淀粉; 脂滴

Doi: 10.3969/j.issn.1009-7791.2012.04.003

中图分类号: S631.2 文献标识码: A 文章编号: 1009-7791(2012)04-0015-04

## Histochemical Observation of Polysaccharides and Lipids on the Developing Anthers of Carrot

WU Xiao-chen, YU Jin-jin, TIAN Hui-qiao

(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian China)

**Abstract:** With pollen development, a big vacuole appeared in the pollen and the starch grains in endothecium and tapetum disappeared. Then the big vacuole decomposed and some starch grains appeared in pollen. Tapetal cells degenerated with pollen development. Some lipid material accumulated in tapetal cells and the lipid material in pollen grains also increased. The most store material in mature pollen is lipid and small part of starches. The process of nutrition material accumulated in pollen with special time and part is also a developmental feature.

**Key words:** carrot; anther; pollen; starch; lipid

被子植物花药结构复杂, 组成花药壁的四层细胞紧密相邻, 但它们的形态、结构和功能截然不同。药室中的雄配子体发育也很特殊: 小孢子母细胞完成减数分裂后, 开始雄配子体发育, 形成的小孢子经不对称有丝分裂形成大小差异明显的生殖细胞和营养细胞, 由生殖细胞在花粉粒中或花粉管中分裂形成两个精细胞。此外, 在花药发育过程中, 如小孢子母细胞的胼胝质壁形成、四分体胼胝质壁的降解、小孢子大液泡形成与二胞花粉中大液泡消失、绒毡层和中层细胞的中途退化等也都是花药发育的关键<sup>[1]</sup>。然而, 目前对被子植物花药发育的调控机制还不清楚。被子植物花粉发育的一个显著特点是其作为营养物质的库积累大量营养物质, 通常是淀粉或脂滴, 为以后花粉萌发时提供能源。研究表明, 花粉营养物质的积累具有一定的时空特性: 一般是在小孢子分裂后的二胞花粉中才开始大量积累营养物质<sup>[2-5]</sup>。然而, 在不同植物中, 花药发育的规律不尽相同, 所积累的营养物质也有差异。目前对不同

收稿日期: 2012-07-09

基金项目: 国家自然科学基金(31170289)、公益性行业(农业)科研专项课题(200903016)资助

作者简介: 吴晓琛 (1990-), 女, 福建平潭人, 硕士研究生, 从事植物生殖生物学研究。E-mail: 582434092@qq.com

注: 田惠桥为通讯作者。E-mail: hqtian@xmu.edu.cn

植物花药发育中的营养物质转运和转化规律还不清楚, 需进行更广泛的探索。

胡萝卜是一种广受喜爱的大众蔬菜, 种植范围广泛。由于胡萝卜的花很小, 对其研究操作难度较大, 国内除了对其花粉萌发有少量研究外, 其他有关胡萝卜的有性生殖研究很少报道。目前国内引种的国外优良胡萝卜种大多都是雌性单性花类型, 无法进行种子繁殖, 每年需花费大量资金从国外购买种子。为此, 我们对胡萝卜花药发育中的营养物质运输和转化规律进行研究, 以期探索胡萝卜有性生殖过程、培育胡萝卜种子打下基础。

## 1 材料与方 法

实验材料为胡萝卜 (*Daucus carota*) ‘早春红冠’ 品种。分别取不同发育时期的花药, 迅速置于含 2.5% 戊二醛、50 mmol/L 二甲胂酸钠 (pH 7.0) 缓冲液配制的前固定液中, 室温固定 3 h。用 50 mmol/L 二甲胂酸钠 (pH 7.0) 缓冲液配制的洗涤液换洗 3 次, 每次 30 min, 再将材料转入 50 mmol/L 二甲胂酸钠 (pH 7.0)、1% 钨酸配制的后固定液中, 在 4 °C 下固定过夜。次日用相同的洗涤液换洗 3 次, 每次 30 min。然后用梯度系列丙酮脱水, Spurr 树脂包埋。用 Leica Ultracut R 型超薄切片机切片, 切片厚度 1  $\mu$ m。参照胡适宜等<sup>[6]</sup>方法, 不同时期的花药切片用高碘酸-希夫反应 (Periodic Acid-Schiff stain, PAS) 标记花药细胞中的多糖类物质, 呈现红色; 再用苏丹黑 B 复染细胞中的脂类物质, 呈现黑色。用 Leica DMR 显微镜观察与拍摄。

## 2 结果与分 析

胡萝卜小孢子母细胞的减数分裂为连续型, 形成的四分体通常呈等四面体排列。四分体中的小孢子仍被厚厚的胼胝质壁分割, 包围。胼胝质壁稍显红色, 表明其中含有多糖。但在小孢子中既没有多糖, 也没有脂滴类物质分布。此时花药壁已分化出四层药壁细胞, 由外向内依次为表皮、药室内壁、中层和绒毡层。表皮、药室内壁和中层细胞高度液泡化, 但绒毡层细胞中没有液泡。在药室内壁细胞的内侧和绒毡层细胞中分布有一些淀粉粒, 但表皮细胞中未见 (图 1: A)。四分体的胼胝质壁溶解后, 小孢子从中游离出来并很快形成各自明显的细胞壁。在幼小花粉中, 出现小液泡, 但仍未积累淀粉粒和脂滴。组成花药壁的细胞体积较以前明显增大, 尤其是绒毡层细胞的厚度相当于外三层细胞的总和。药室内壁细胞的体积也较以前明显增加。原来积累在药室内壁和绒毡层细胞中的淀粉粒消失, 但在绒毡层细胞中出现了零星的脂滴 (图 1: B)。随着花药的发育, 药室中的花粉大液泡更加明显, 花粉壁也呈现出两层结构: 外层是含脂类的孢粉素花粉外壁, 内层为含多糖的纤维素花粉内壁。花粉中出现了少量淀粉粒。在花药壁的绒毡层细胞中形成了很多小液泡, 其内切向壁和径向壁转变为红色多糖性质。绒毡层外的其余三层药壁细胞变化不大, 既没有淀粉, 也没有脂滴 (图 1: C)。随着花药的发育, 花粉中的大液泡消失, 细胞质内含物增加。在花粉中除了有一些淀粉粒外, 新出现了少量脂滴, 花药壁的绒毡层细胞中也新出现了脂滴; 有些绒毡层细胞形成了较大的液泡。绒毡层外的其余三层药壁细胞没有明显变化, 依然高度液泡化 (图 1: D)。随着花药的进一步发育, 花粉内的淀粉粒和脂滴数量均有所增加, 此时, 绒毡层细胞已退化为残迹。在绒毡层细胞退化过程中, 细胞中的内含物都转变为脂类物质, 在残存的绒毡层细胞中形成了较大的脂滴。绒毡层细胞外的三层药壁细胞中, 药室内壁细胞出现径向壁加厚的现象, 但依然没有淀粉和脂滴 (图 1: E)。在开花前一天的花药中, 接近成熟的花粉粒中聚集了较多的脂滴和少量淀粉粒。此时, 花药壁只剩表皮、药室内壁和中层细胞, 绒毡层只剩很少的残迹 (图 1: F)。

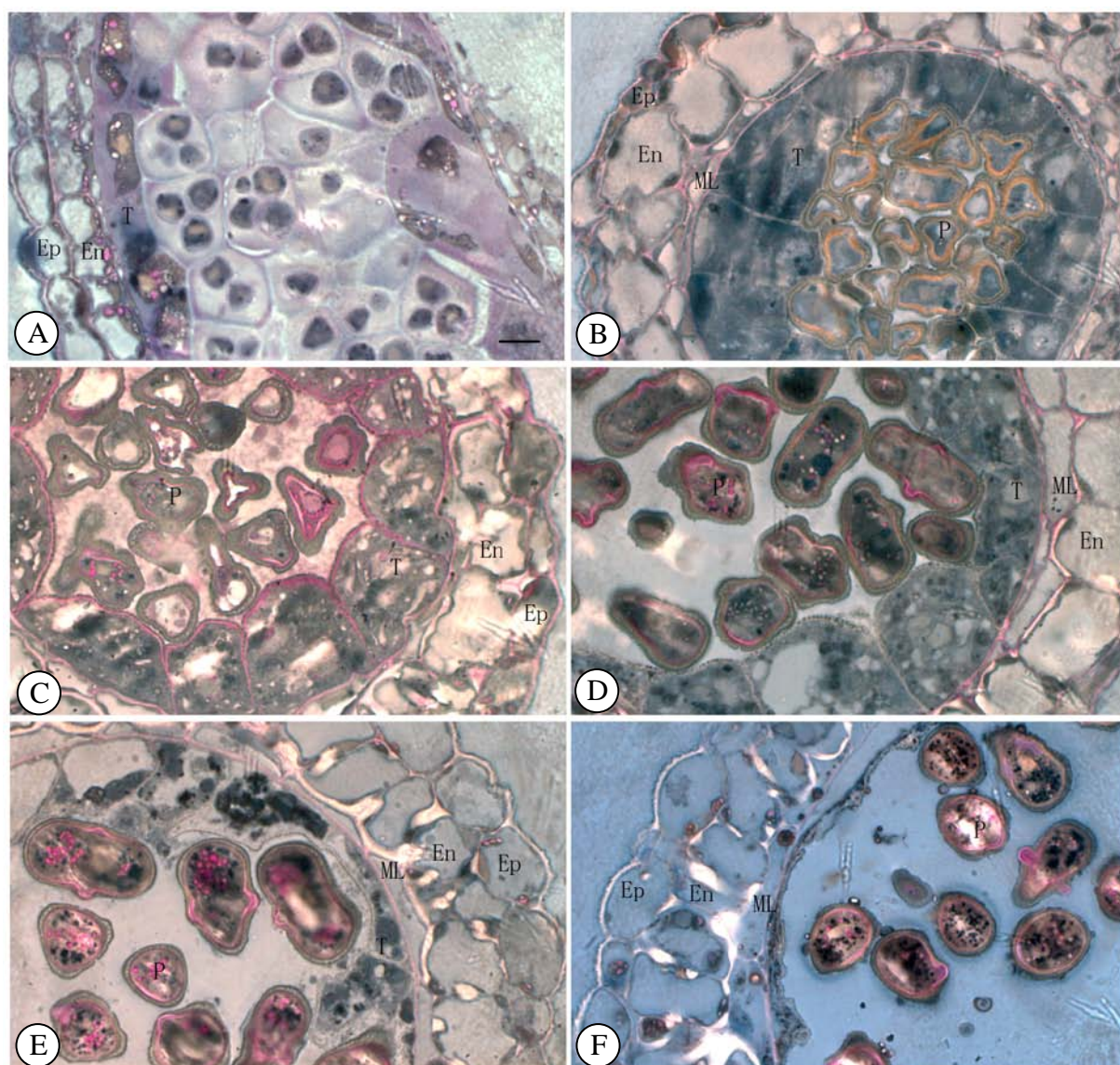


图1 胡萝卜花药发育的组织化学研究

- A. 四分体时期的花药中,药室内壁(En)和绒毡层细胞(T)中有淀粉粒。
- B. 绒毡层细胞(T)体积明显增大,细胞中出现液泡,原来积累的淀粉粒消失,出现少量脂滴。
- C. 花粉(P)进一步发育产生了大液泡,细胞质中开始积累淀粉粒;在绒毡层细胞(T)中出现小液泡,其内切向壁和径向壁开始分解为多糖性质。
- D. 花粉(P)中的大液泡消失,细胞质中淀粉粒增加;绒毡层细胞(T)中出现较大液泡和一些脂滴。
- E. 花粉(P)中的淀粉粒和脂滴较以前进一步增加;绒毡层细胞(T)退化为残迹,其中有明显的脂类物质。
- F. 近成熟的花粉(P)中积累较多的脂滴和较少的淀粉粒;绒毡层细胞完全退化,花药壁由表皮(Ep)、药室内壁(En)和中层(ML)细胞组成。

所有图片均放大700倍,标尺=10 μm。

### 3 讨论

在被子植物花粉发育过程中,花药中营养物质的正常运输和转化是一重要环节<sup>[5]</sup>。不同植物的营



营养物质运输和转化呈现出多样性。在玉竹花粉发育中,二胞花粉早期伴随着营养细胞中大液泡消失,开始出现淀粉粒和脂滴<sup>[7]</sup>。在白菜花药发育中,先是药隔组织中出现淀粉粒,而在绒毡层细胞中出现的却是脂类物质,这暗示体内运输被转化成的脂类物质为发育中的花粉粒所利用。在成熟花粉粒中储存了大量的脂类颗粒<sup>[8]</sup>。在枸杞花药发育中,药隔和药壁组织最先出现淀粉粒,接着在绒毡层中出现脂滴,表明体内向花药转运的营养物质为多糖类物质,但在绒毡层细胞中,多糖物质被转化成脂类物质供花粉粒吸收<sup>[9]</sup>。在洋葱花药发育中,小孢子母细胞时期的绒毡层细胞先出现淀粉粒,在减数分裂时期脂滴明显增加,到二胞花粉时期,退化的绒毡层细胞中脂类物质被二胞花粉吸收<sup>[10]</sup>。在巴戟天花药发育中,早期二胞花粉中首先积累大量的淀粉粒,随着花粉的发育,成熟花粉中的主要储存物质却变为脂类,暗示由花粉将糖类转化为脂类<sup>[11]</sup>。在本实验中,早期花药壁的药室内壁和绒毡层细胞中有淀粉粒积累,暗示体内其他地方的糖类物质被转运到花药中(图1: A)。在花药发育中,绒毡层细胞所含淀粉粒消失,最后退化的绒毡层细胞中出现较多的脂类物质,同时花粉中的脂类物质含量也明显增加,说明绒毡层细胞的脂类物质被发育中的花粉吸收(图1: D,E)。

胡萝卜成熟花粉粒中的储存物主要为脂滴,也有少部分淀粉粒(图1: F)。胡萝卜花药在特定时间和特定部位积累定量储存物质的过程也是胡萝卜花药发育的一个特征。

### 参考文献:

- [1] 胡适宜. 被子植物生殖生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005: 29-92.
- [2] Rudramuniyapa C K, Annigeri B G. Histochemical observations on the sporogenous tissue and tapetum in the anther of *Euphorbia*[J]. Cytologia, 1985,50: 39-48.
- [3] Tiwari S C, Gunning B E S. An ultrastructural cytochemical and immunofluorescence study of postmeiotic development of plasmodial tapetum in *Tradescantia virginiana* L. and its relevance to the pathway of sporopollenin secretion[J]. Protoplasma, 1986,133: 100-144.
- [4] Calzoni G L, Speranza A, Caramiello R, et al. Wall ultrastructure and biochemical features of the *Juglaus regia* L. and *Juglaus nigra* L. male gametophyte[J]. Sexual Plant Reproduction, 1990,(3): 139-146.
- [5] 田惠桥,朱学艺. 被子植物生殖生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2012: 1-15.
- [6] 胡适宜,徐丽云. 显示环氧树脂厚切片中多糖、蛋白质和脂类的细胞化学方法[J]. 植物学报, 1990,32(11): 841-846.
- [7] 罗玉英,胡适宜. 玉竹生殖细胞壁在发育中的变化[J]. 植物学报, 1995,37(1): 7-13.
- [8] 谢潮添,杨延红,朱学艺,等. 白菜细胞核雄性不育花药的细胞化学观察[J]. 实验生物学报, 2004,37: 295-302.
- [9] 徐青,王仙琴,田惠桥,等. 枸杞花药发育过程中脂滴和淀粉粒的分布特征[J]. 分子细胞生物学报, 2006,39(2): 103-110.
- [10] 魏冬梅,菅明霞,邓桦,等. 洋葱花药发育过程中的细胞化学研究[J]. 分子细胞生物学报, 2007,40(6): 451-457.
- [11] 郑松,魏冬梅,林美珍,等. 巴戟天花药发育过程中多糖和脂滴分布特征[J]. 植物生理学通讯, 2010,46(3): 231-235.